

Кинетические закономерности химического деацетилирования хитина и хитозана

В.Ю. Новиков¹, Е.Н. Чеботок², Г.А. Гизатулина², И.Н. Коновалова²

¹ Полярный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н.М. Книповича, Мурманск

² Технологический факультет МГТУ, кафедра химии

Аннотация. Проведено сравнение химического гидролиза хитина и хитозана в кислой и щелочной среде. Показано, что наличие кристаллической структуры в исследованных образцах не является причиной замедления процесса деацетилирования. Возможно протекание двух параллельных реакций – деацетилирования и образования малоактивного интермедиата, который разрушается при промывке. Рассчитаны константы скоростей реакций, протекающих при деацетилировании.

Abstract. The comparison of chemical hydrolysis of chitin and chitosan in acid and alkaline media has been carried out. It has been shown that the presence of the crystal structure in the investigated samples is not a reason of deceleration of the deacetylation process. Two parallel reactions can take place – deacetylation and buildup of slow-acting intermediate which has been destroyed during scour. The constants of velocities of reactions taking place at deacetylation have been calculated.

1. Введение

Химический гидролиз является основным промышленным способом получения хитина и хитозана в больших объемах. Главные достоинства его состоят в больших выходах продуктов, высоких скоростях превращений, низкой стоимости переработки. Его основными недостатками являются образование трудно утилизируемых отходов и трудность контроля качественных свойств получаемых продуктов.

Совершенствование химических способов переработки требует детального изучения механизмов гидролиза в кислых и щелочных условиях и установления основных закономерностей этих превращений.

Химический гидролиз хитина и хитозана заключается в расщеплении амидных и гликозидных связей, что приводит к процессам деацетилирования и деполимеризации. При щелочном гидролизе основным процессом является деацетилирование амидных связей. В процессе кислотного гидролиза расщепляются как амидные, так и гликозидные связи, т.е. происходят процессы деацетилирования и деполимеризации.

Целью статьи является сравнение химического гидролиза хитина и хитозана в кислой и щелочной среде и установление общих закономерностей и различий процесса деацетилирования.

2. Объекты и методы анализа

В работе использовали хитин, хитозан, D-глюкозамина гидрохлорид (GlcN·HCl) и ацетилглюкозамин (GlcNAc), полученные из панцирей северной креветки и антарктического криля по известным технологиям (No, Meyers, 1995).

Содержание аминогрупп, а также степени деацетилирования (DD) хитозана и концентрацию GlcN·HCl определяли потенциометрическим и кондуктометрическим титрованием растворов 0.1 М HCl с помощью 0.1 М NaOH (Нудьга и др., 1973).

Среднюю молекулярную массу (MM) хитозана определяли вискозиметрическим методом. Для этого использовали растворы хитозана в 0.334 М уксусной кислоте (CH₃COOH) и 0.3 М хлориде натрия (NaCl), при 21°C. Среднюю молекулярную массу (MM) хитозана рассчитывали по уравнению Марка-Хаувика-Сакурады (Павлов, Селюнин, 1986).

Концентрации D-глюкозамина гидрохлорида GlcNAc и уксусной кислоты (AcOH) оценивали с помощью эксклюзионной ВЭЖХ на хроматографе LC-10Avp (Shimadzu Corp., Япония) с использованием колонок TSK-gel Alpha-2500 и Alpha-4000 (30 × 0.78 см) (Tosoh, Япония) и регистрировали по оптическому поглощению на 210 нм. Элюентом был 0.3 М NaCl, подкисленный до pH 3.0 с помощью HCl.

3. Обсуждение результатов

Предварительные результаты изучения кинетики деацетилирования хитина, полученного из различного сырья (креветки и криля), показали, что этот процесс практически не зависит от размера частиц (от 0.05 до 5.0 мм) и источника хитина. По всей видимости, эти результаты можно объяснить

формой частиц хитина креветки и крыля, представляющих собой тонкие хлопья, внутренние области которых легко доступны для химических реагентов.

При дезацетилировании хитина в щелочных условиях было установлено, что невозможно получить полностью дезацетилированный продукт непрерывной обработкой в щелочи. Только после промывки промежуточного продукта можно увеличить степень дезацетилирования практически до 100 % (рис. 1).

Подобные результаты были обсуждены в работе (Mima *et al.*, 1983) и в наших ранних публикациях (например, Новиков и др., 1990).

Кинетические кривые непрерывного щелочного дезацетилирования в гомогенных и гетерогенных условиях имели одинаковую форму и состояли из участка быстрого роста степени дезацетилирования и пологой области медленного ее увеличения, причем полного дезацетилирования не наблюдалось (рис. 2, 3).

Распространенный взгляд на механизм гидролитического дезацетилирования состоит в том, что общая скорость дезацетилирования складывается из скоростей гидролиза амидных связей в аморфных и кристаллических областях хитина (Kurita *et al.*, 1977). Быстрое дезацетилирование наблюдается в аморфных областях, медленное – в кристаллических. После полного дезацетилирования аморфных областей скорость гидролиза падает до скорости дезацетилирования в оставшихся кристаллических областях. Эта модель определяет характерную форму кинетической кривой. После промывки часть кристаллических областей приобретает аморфную структуру из-за увеличения степени дезацетилирования. После вторичной обработки кинетические закономерности процесса дезацетилирования повторяются.

Известно, что доля кристаллической структуры в хитине уменьшается с увеличением степени дезацетилирования вплоть до полного исчезновения (Kurita *et al.*, 1977; Cho *et al.*, 2000; Prashanth *et al.*, 2002). При высоких степенях дезацетилирования (более 95 %) начинает образовываться кристаллическая структура хитозана, поэтому следовало ожидать, что кинетика щелочного дезацетилирования будет отличаться для образцов с различной начальной степенью дезацетилирования.

Ранее было показано, что формы кинетических кривых дезацетилирования образцов с *DD* от 15 до 93 % высоко идентичны (Новиков, 1999; 2003). Поэтому было сделано предположение о том, что механизм дезацетилирования не зависит от начальной степени дезацетилирования. Однако этот результат противоречит предположению о зависимости кинетики дезацетилирования от неравномерной кристалличности хитиновых образцов (Kurita *et al.*, 1977).

Рис. 1. Кинетические кривые дезацетилирования хитина в 50 % NaOH при 95 °С:

- 1 – непрерывное дезацетилирование; и дискретное дезацетилирование хитина;
- 2 – шаг обработки 60 мин;
- 3 – шаг обработки 30 мин;
- 4 – шаг обработки 15 мин.

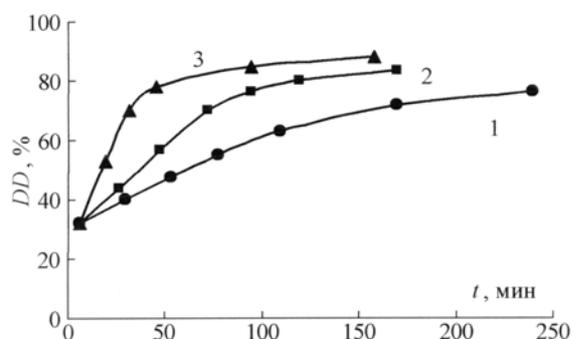


Рис. 2. Кинетические кривые гомогенного щелочного гидролиза хитина при различной температуре: 1 – 25 °С; 2 – 30 и 3 – 40 °С. Концентрация хитина 1 %; NaOH – 10 %

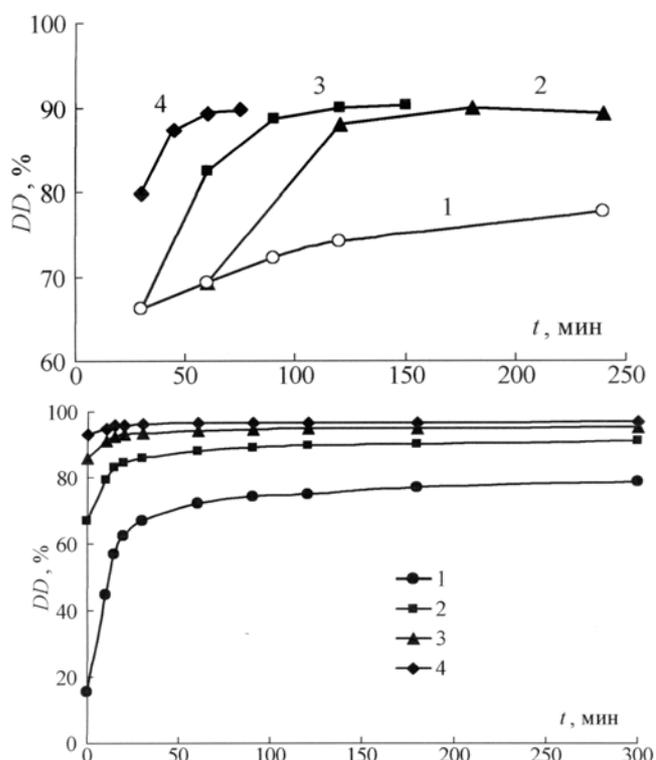


Рис. 3. Кинетические кривые гетерогенного щелочного гидролиза хитина и хитозанов с различными степенями дезацетилирования: 1 – 15 %; 2 – 67 %, 3 – 86 % и 4 – 93 %. Концентрация NaOH 50 %; температура 95±2 °С

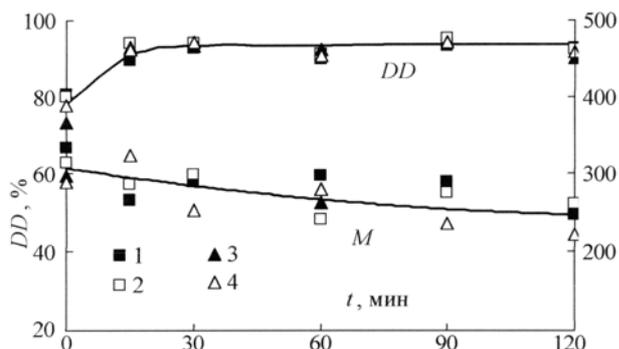


Рис. 4. Влияние перекристаллизации на кинетику деацетилирования (DD) и деполимеризации хитозана (MM). Образцы хитозана: 1 – исходный влажный; 2 – исходный сухой; 3 – перекристаллизованный влажный; 4 – перекристаллизованный сухой. Концентрация NaOH 50 %, температура 109 °С

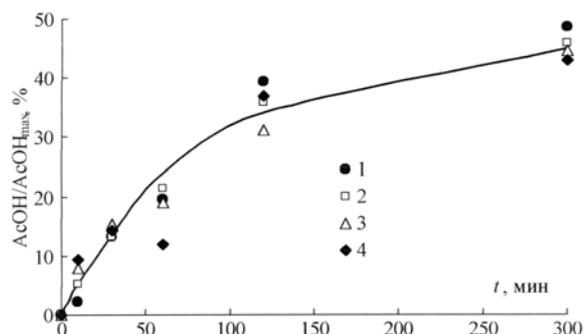


Рис. 5. Кинетическая кривая образования AcOH при кислотном гидролизе хитина и хитозанов; начальная степень деацетилирования: 1 – 15 %; 2 – 67 %; 3 – 88 %; 4 – 92 %. Температура гидролиза 70 °С

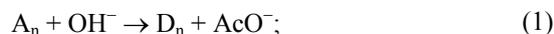
С целью выяснения влияния степени кристалличности на кинетические закономерности процесса деацетилирования и деполимеризации была изучена кинетика деацетилирования образцов хитозана с первоначальной и разрушенной кристаллической структурой (для этого использовали хитозан, перекристаллизованный из раствора хлороводородной кислоты). Для всех исследованных образцов было получено практически полное совпадение кинетических кривых изменения DD и молекулярных масс (рис. 4).

Данные, приведенные на рис. 4, свидетельствуют о том, что наличие кристаллической структуры в исследуемых образцах не является причиной замедления процесса деацетилирования.

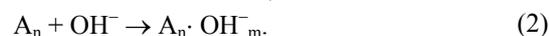
Можно предположить, что в случае щелочного гидролиза протекают параллельные реакции. Одна из них ведет к деацетилированию, другая – к образованию малоактивного интермедиата (например, за счет взаимодействия ацетилированных звеньев хитозана с ионами OH^-), который разрушается при промывке.

Щелочной гидролиз:

деацетилирование:



образование малоактивного интермедиата:



В результате обработки кинетических кривых было показано, что обе реакции (реакция деацетилирования и образования малоактивного интермедиата) являются реакциями первого или псевдопервого порядка (Шмид, Сапунов, 1985). Скорости этих двух реакций пропорциональны концентрации ацетилированных звеньев в полимерной цепи или степени ацетилирования (DA).

Получено следующее соотношение для всех изученных образцов хитозана:

$$\Delta DD(t) = \Delta DD(t, DA_{i0})/DA_{i0},$$

где $\Delta DD(t)$ – изменение степени деацетилирования хитозана в момент времени t ; $\Delta DD(t, DA_{i0})$ – изменение степени деацетилирования i -го хитозана с начальной степенью ацетилирования DA_{i0} в момент времени t ; DA_{i0} – начальная степень ацетилирования i -го хитозана.

При изучении кислотного деацетилирования хитина и хитозана получено аналогичное соотношение для процесса образования уксусной кислоты (рис. 5):

$$C_{\text{AcOH}}(t) = C_{\text{AcOH}}(t, DA_{i0})/DA_{i0},$$

где $C_{\text{AcOH}}(t)$ – концентрация уксусной кислоты в момент времени t ; $C_{\text{AcOH}}(t, DA_{i0})$ – концентрация уксусной кислоты при деацетилировании i -го хитозана с начальной степенью ацетилирования DA_{i0} в момент времени t ; DA_{i0} – начальная степень ацетилирования i -го хитозана.

Следует отметить, что в случае кислотного деацетилирования общее деацетилирование достигало 100 %, что говорит о протекании преимущественно одного процесса деацетилирования:

Кислотный гидролиз:

деацетилирование:



Полученные зависимости позволили сделать предположение о том, что деацетилирование может быть рассмотрено, как реакция ацетилированных звеньев хитозана с гидроксил-ионами OH^- или катионами водорода H^+ . На основе математической обработки полученных результатов были рассчитаны

константы скорости основных реакций при щелочном и кислотном деацетилировании (реакции 1, 2 и 3) и построены расчетные кинетические кривые, с высокой адекватностью совпадающие с экспериментальными результатами (рис. 6). Коэффициенты корреляции при щелочном и кислотном деацетилировании, соответственно, составляют 0.9992 и 0.9997.

Константы скорости реакций:

щелочной гидролиз: $k_1 = 0.064 \text{ мин}^{-1}$, $k_2 = 0.033 \text{ мин}^{-1}$;

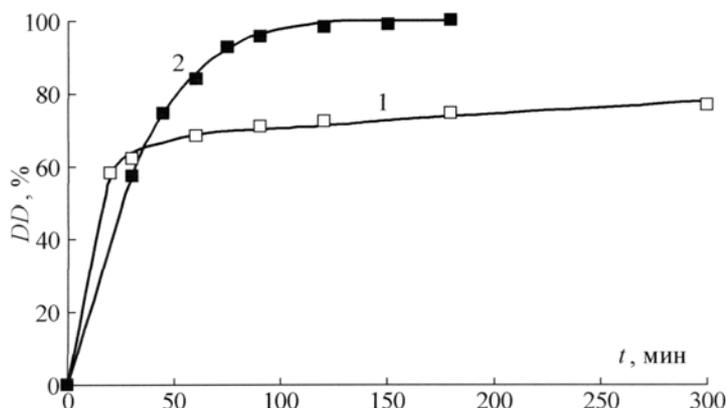
кислотный гидролиз: $k_3 = 0.029 \text{ мин}^{-1}$.

Рис. 6. Расчетные кинетические кривые деацетилирования хитина в различных условиях.

Экспериментальные результаты показаны точками.

1 – щелочной гидролиз, концентрация NaOH 50 %, температура 95 °С;

2 – кислотный гидролиз, концентрация HCl 35.8 %, температура 80 °С



4. Вывод

Показано, что наличие кристаллической структуры в исследованных образцах не является причиной замедления процесса деацетилирования; возможно протекание двух параллельных реакций – деацетилирования и образования малоактивного интермедиата, который разрушается при промывке. Показано, что скорости этих реакций пропорциональны концентрациям ацетилированных звеньев в полимерной цепи или степени ацетилирования; рассчитаны константы скоростей реакций.

Литература

- Cho Y.-W., Jang J., Park C.R., Ko S.-W. Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins. *Biomacromol*, v.1, N 4, p.609-614, 2000.
- Kurita K., Sannan T., Iwakura Y. Studies on chitin, 4. Evidence for formation of block and random copolymers of N-acetyl-D-glucosamine and D-glucosamine by hetero- and homogeneous hydrolysis. *Makromol. Chem.*, v.178, N 12, p.3197-3202, 1977.
- Mima S., Miya M., Iwamoto R., Yoshikawa S. Highly deacetylated chitosan and its properties. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.28, N 6, p.1909-1917, 1983.
- No H.K., Meyers S.P. Preparation and characterization of chitin and chitosan: A review. *J. Aquatic Food Product Technol.*, v.4, N 2, p.27-52, 1995.
- Prashanth H.K.V., Kittur F.S., Tharanathan R.N. Solid state structure of chitosan prepared under different N-deacetylating conditions. *Carbohydr. Polym.*, v.50, N 1, p.27-33, 2002.
- Новиков В.Ю. Кинетика реакции образования D(+)-глюкозамина при кислотном гидролизе хитина. *ЖПХ*, т.72, № 1, с.147-152, 1999.
- Новиков В.Ю. Химический гидролиз хитина и хитозана. *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Матер. VII Международ. конф., Санкт-Петербург*, с.38-42, 2003.
- Новиков В.Ю., Орлова Т.А., Воронина И.Э. Кинетика реакции деацетилирования хитина и хитозана. *Изв. вузов. Пищевая технология*, № 5, с.64-67, 1990.
- Нудьга Л.А., Плиско Е.А., Данилов С.Н. О-Алкилирование хитозана. *Ж. общ. химии*, т.43 (XLIII), № 12, с.2752-2756, 1973.
- Павлов Г.М., Селюнин С.Г. Скоростная седиментация, молекулярная масса и конформационные параметры некоторых растворимых производных хитина. *Высокомолек. соедин. Сер. А*, т.28, № 8, с.1727-1731, 1986.
- Шмид Р., Сапунов В.Н. Неформальная кинетика. *М., Мир*, 264 с., 1985.